

COMPUESTOS BIOACTIVOS EN FRUTAS PEQUEÑAS DE LA PATAGONIA ARGENTINA: EFECTO DEL SOLVENTE DE EXTRACCION EN SU DETERMINACIÓN CUANTITATIVA

Autores:

**CAROLINA PAULINO, ALICIA KESSELER,
MÓNICA OCHOA Y ANTONIO DE MICHELIS**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE – INTA AER El Bolsón
ARGENTINA
2013

Información de los Autores:

Carolina Paulino

Facultad Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Universidad Nacional del Comahue. 25 de Mayo 113, Villa Regina - Río Negro - Argentina. Tel: 54-2941-463200.

e-mail: paulinocarolina@gmail.com

Alicia Kessler

Facultad Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Universidad Nacional del Comahue

Mónica Ochoa

Facultad Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Universidad Nacional del Comahue

Antonio De Michelis

CONICET – Facultad Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Universidad Nacional del Comahue – INTA AER El Bolsón – CONICET. Mármol 1950 (8430) El Bolsón – Río Negro – Argentina. Teléfono y Fax: 54 294 4492422.

e-mail: ademichelis@bariloche.inta.gov.ar

Autor de correspondencia

Las opiniones expresadas en este documento no son necesariamente opiniones de la Revista ReCiTeIA, de sus órganos o de sus funcionarios. ReCiTeIA no se hace responsable de materiales con derecho de autor tomados sin autorización por los propios autores.

Edición:

2013 © ReCiTeIA.

ISSN 2027-6850

Cali – Valle – Colombia

e-mail: reciteia@gmail.com

url: <http://revistareciteia.es.tl/>

Compuestos bioactivos en frutas pequeñas de la patagonia argentina: efecto del solvente de extracción en su determinación cuantitativa

Biactive compounds in patagonian small fruits extracted with different solvents

Carolina Paulino, Alicia Kessler, Mónica Ochoa y Antonio De Michelis
Universidad Nacional del Comahue – INTA AER El Bolsón – CONICET – Argentina

CONTENIDO

Lista de Tablas.....	9
Lista de Figuras	9
Resumen	10
Abstract.....	11
1 Introducción	12
2 Materiales y métodos	13
2.1 Extracción.....	13
2.2 Fenoles totales	13
2.3 Flavonoides	13
2.4 Capacidad Antioxidante	14
2.5 Diseño experimental y análisis estadístico	14
3 Resultados y discusión	14
4 Conclusiones	19
5 Agradecimientos	19
6 Bibliografía	19

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valores de los compuestos bioactivos en las frutas analizadas con los distintos solventes	15
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Contenido de FT y Fv para Guinda.....	16
Figura 2. Contenido de FT y Fv para Zarzamora	16
Figura 3. Contenido de FT y Fv para Arándano.....	17
Figura 4. CA en todas las frutas analizadas y en los diferentes solventes.....	17

Compuestos bioactivos en frutas pequeñas de la patagonia argentina: efecto del solvente de extracción en su determinación cuantitativa

RESUMEN

Actualmente se considera que la ingesta de compuestos bioactivos contribuye a la protección de la salud. Ellos colaboran en la disminución de riesgos de patologías tales como ciertas enfermedades cardíacas, el cáncer, etc. Su acción estaría relacionada a proteger las células de los daños producidos por radicales libres. Las denominadas “frutas pequeñas” comprenden un grupo de especies de importancia económica creciente y de fuerte impacto en la economía de los valles andino-patagónicos de Argentina. El objetivo del presente trabajo es examinar el efecto de los diferentes solventes utilizados para la extracción de compuestos bioactivos en zarzamora, guinda y arándano. Las frutas frescas se pulparon mediante batidora de inmersión y se utilizaron nueve sistemas de extracción: agua destilada, soluciones acuosas de metanol, etanol y acetona al 50% y 70%, solución al 1% de HCl en metanol y en etanol. Se analizó el contenido de fenoles totales (FT) por el método de Folin & Ciocalteau, capacidad antioxidante (CA) con 1,1-difenil-2-picrilhidracilo, (DPPH) y flavonoides (Fv) por el método de formación de complejo con $AlCl_3$. En todas las frutas se observó variabilidad en los parámetros analizados según los solventes de extracción. Los valores mínimos de FT, Fv y CA se obtuvieron con agua destilada mientras que con la solución de metanol ácido los resultados fueron los más elevados. La guinda presentó el mayor contenido de FT (579 ± 31 mg GAE/100 g FF) y Fv (312 ± 12 mg CE/100 g FF) y zarzamora el mayor contenido de CA ($2,08 \pm 0,01$ mg⁻¹ FF).

Palabras clave: pequeñas frutas, efecto del solvente, fenoles totales, DPPH, flavonoides.

Biactive compounds in patagonian small fruits extracted with different solvents

ABSTRACT

Regular consumption of bioactive compounds is an important factor in health care. It is known that these compounds contribute to reduce the risk of various diseases such as cancer, heart diseases, etc. Their medicinal action would be related to protect cells from damage caused by free radicals such as oxygen reactive species. The so-called "small fruits" belong to a group of fruit species, it is has a growing economic importance and a strong impact on the regional economy of the Andean-Patagonian valleys of Argentina. The aim of this paper is to examine the effect of different solvents used for the extraction of bioactive compounds in blackberry, sour cherry and blueberry. Fresh fruits (FF) turned into pulp using an immersion blender. The nine extraction systems were: distilled water, 50% and 70% methanol, ethanol and acetone in water, 1% solution of HCl in methanol and ethanol. It was analyzed the total phenol content (FT) by Folin & Ciocalteau method, antioxidant capacity (CA) with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, (DPPH) and flavonoids (Fv) by the method of forming a complex using $AlCl_3$. There was variability in the parameters analyzed by solvent extraction, in all the fruits. The lowest values of FT, Fv and CA were obtained with distilled water while the ones obtained with methanol-acid solution were the highest. Sour cherry had the highest content of FT (579 ± 31 mg GAE/100 FF) and Fv (312 ± 12 mg CE/100 FF) meanwhile blackberry had the highest content of CA ($2,08 \pm 0.01$ mg⁻¹ FF)

Keywords: small fruits, extraction system, total phenolic content, DPPH, flavonoids

1 INTRODUCCIÓN

En la Patagonia Argentina abundan materias primas de origen vegetal que son alimentos en sí mismas o que serían potenciales precursores de nuevos alimentos, sin embargo, se ha encontrado poca bibliografía en la cual se hayan investigado exhaustivamente los distintos principios activos que se podrían obtener de dichas materias primas regionales. Las llamadas frutas pequeñas agrupan a un conjunto de especies frutales que se caracterizan principalmente por su reducido tamaño, en comparación a las pomáceas o frutas de pepita.

Desde el punto de vista nutricional, son fuentes potenciales de compuestos bioactivos, los cuales retardan o inhiben la oxidación de los componentes celulares por acción de radicales libres y, en consecuencia, son esenciales antioxidantes que protegen contra la propagación de la cadena oxidativa. La determinación de éstos compuestos en frutas, verduras y otros alimentos ha sido de interés creciente en los últimos años debido a que se cree que su ingesta regular como parte de la dieta, ayuda en la prevención de enfermedades diversas (cáncer, diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares), retrasa la señal de envejecimiento, y mejora el estado físico [Mohamed *et al.*, 2005].

Entre los antioxidantes más conocidos figuran los tocoferoles, el ácido ascórbico, los flavonoides (quercitina, robinutina, luteolina, kaempferol, naringenina, catequinas, etc.), antocianinas, carotenoides, ácidos fenólicos (ácidos caféico, ferúlico, gálico, clorogénico), etc. De éstos, los ácidos fenólicos se reconocen como los principales contribuyentes de la actividad antioxidante en extractos vegetales, debido a su alto valor en el contenido total [Hodzic *et al.*, 2009]. Su presencia en frutas queda determinada por numerosos factores, entre los que se pueden mencionar la especie, la variedad, las condiciones de cultivo, maduración, entre otros.

La extracción de estos componentes es uno de los pasos más importantes en el pretratamiento de la muestra. Es un procedimiento secuencial y sistemático, llevado a cabo utilizando un disolvente orgánico acuoso para extraerlos. Este método tradicional se llama extracción líquido-líquido y en la literatura se mencionan diferentes solventes de extracción para compuestos bioactivos a partir de productos frescos, tales como metanol, etanol, acetona, propanol, acetato de etilo y dimetilformamida, con o sin el agregado de agua y/o ácido [Antolovich *et al.*, 2000; Luthria *et al.*, 2006].

La evidencia sugiere que la recuperación y el rendimiento de los compuestos bioactivos obtenidos en el extracto están influenciados por el tipo y la polaridad del solvente de extracción, así como también por el tiempo, la temperatura de la extracción, y las características físicas de las muestras [Naczki y Shahidi, 2006]. En este estudio, todos los factores fueron estandarizados, a excepción del solvente de extracción. La selección de los sistemas se hizo sobre la base de su eficiencia reportada en la extracción de polifenoles y otros compuestos antioxidantes de la matriz de la muestra fresca [Allothman *et al.*, 2009; Luthria *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2007].

En el presente trabajo se pretende contribuir al conocimiento en lo que hace a la composición de las materias primas regionales haciendo hincapié en el solvente de extracción utilizado para la cuantificación de fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron zarzamoras var. Thornfree, guindas var. Montmorency y arándanos var. Elliot, obtenidas de productores de la zona de la Comarca Andina del Paralelo 42 (Río Negro, Argentina), las frutas fueron enviadas en forma refrigerada hasta Villa Regina y almacenadas a 4°C hasta el momento de su análisis.

2.1 EXTRACCIÓN

Las frutas frescas (FF) se pulparon mediante batidora de inmersión. Se pesaron 2 g de pulpa, se añadieron 10 mL de solvente y se colocó en un baño termostatzado a 37°C durante 30 minutos, agitando cada 6 minutos. Luego se filtró mediante vacío y el residuo se volvió a extraer con 10 mL más de solvente. Finalmente los extractos reunidos se llevaron a 50 mL con agua destilada. Los extractos se realizaron por triplicado.

Se utilizaron nueve sistemas de extracción: agua destilada, soluciones acuosas de metanol, etanol y acetona al 50% y 70%, solución al 1% de HCl en metanol y en etanol (AD; ME 50; ME 70; ET 50; ET 70; AC 50; AC 70; MEAC y ETAC respectivamente).

2.2 FENOLES TOTALES

La concentración de fenoles totales (FT) se midió por el método descrito por Swain y Hillis [1959] con algunas modificaciones. Se adicionó a una alícuota de 50 µL de extracto, 1500 µL de agua destilada y 100 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 1N. Se agitó con vortex y a los 3 minutos se adicionó 300 µL de Na₂CO₃ 20%. Se incubó 30 minutos a 40 °C. Las lecturas de absorbancia fueron realizadas con un espectrofotómetro Metrolab 1700 a 765 nm, contra un estándar externo de Ácido Gálico (mg/L). Los resultados finales se expresaron como mg Ácido Gálico equivalente/100g FF. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

2.3 FLAVONOIDES

Se determinaron los flavonoides totales (Fv) por el método de formación de complejo con AlCl₃, contra un estándar externo de catequina (mg/L). Una alícuota del extracto se mezcla con 300 µL NaNO₂ 5%. Luego de 5 min se añaden 300 µL AlCl₃ 10% y finalmente luego de 6 min 2 mL NaOH 1 N. Se lleva a 10 mL con agua destilada. Las lecturas de absorbancia fueron realizadas con un espectrofotómetro Metrolab 1700 a 510 nm. Los resultados finales se expresaron como mg catequina equivalente/100g FF [Zhishen *et al.*, 1999]. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

2.4 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante (CA) fue analizada empleando el radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH) en metanol [Brand-Williams *et al.*, 1995]. El grado de decoloración de la solución indicó la eficiencia antioxidante de la sustancia agregada. Se mezcló 2 mL de solución de DPPH en metanol (25 ppm) con diferentes alícuotas de muestra completando el volumen final de 50 μ L con agua destilada. Luego de 180 min se midió el cambio de absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro Metrolab 1700. Las medidas se hicieron usando 3 volúmenes distintos de muestra. La cantidad de antioxidante (mg de tejido fresco) necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50% se denominó EC50 y para mayor simplicidad se definió la capacidad antioxidante como $1/EC_{50}$ (1/mg de tejido fresco): esto significa que a mayor capacidad antioxidante, más efectivo es el tejido como antioxidante. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

2.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En primera instancia se aplicó un diseño factorial completamente aleatorizado a dos vías, donde los factores analizados fueron fruta y tipo de solvente. Se chequearon los supuestos de homocedasticidad de varianza, normalidad y aleatoriedad de los residuales. El análisis se desestimó ya que la interacción resultó significativa, para un nivel de significancia $\alpha = 0,05$, lo que opaca los efectos principales, invalidando el análisis. Por esta razón se procedió a aplicar un diseño completamente aleatorizado para cada fruta, siendo las variables respuesta: contenido de fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante. Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza para un nivel de significancia $\alpha = 0,05$ y se empleó la prueba de DGC (Di Rienzo, Guzmán, Casanoves) para la comparación de medias, ya que la misma permite crear grupos homogéneos excluyentes. Se utilizó el programa estadístico Infostat v. libre [Di Rienzo *et al.*, 2011].

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio se utilizaron frutas frescas para mantener la calidad original de las matrices. Cada una de ellas (guinda, arándano y zarzamora) se extrajo usando sistemas de solventes con diferentes polaridades. El efecto de estos sistemas de solventes en la extracción de los compuestos bioactivos antioxidantes fue cuantitativamente medido y comparado.

En la Tabla 1 se muestra el contenido de FT, Fv y CA en los distintos extractos para las tres frutas.

El rango de FT osciló para guinda de 141 a 579 mg GAE/100 g FF, para zarzamora entre 268 y 439 mg GAE/100 g FF y para arándano entre 164 y 357 mg GAE/100 g FF. La guinda presentó el mayor contenido de FT en comparación con las otras dos frutas.

En cuanto a Fv los valores más elevados fueron nuevamente para guinda (65 a 312 mg CE/100 g FF), seguido por arándano (54 a 144 mg CE/100 g FF) y finalmente zarzamora (61 a 102 mg CE/100 g FF).

La CA osciló para zarzamora de 0,69 a 2,08 mg⁻¹ FF; de 0,45 a 1,96 mg⁻¹ FF para guinda y de 0,31 a 1,26 para arándano, mostrando que zarzamora y guinda poseen los valores más altos.

Tabla 1. Valores de los compuestos bioactivos en las frutas analizadas con los distintos solventes

	Guinda			Zarzamora			Arándano		
	FT (mg GAE/100 g FF)	Fv (mg CE/100 g FF)	CA (mg ⁻¹ FF)	FT (mg GAE/100 g FF)	Fv (mg CE/100 g FF)	CA (mg ⁻¹ FF)	FT (mg GAE/100 g FF)	Fv (mg CE/100 g FF)	CA (mg ⁻¹ FF)
AD	141 ± 15 ^D	65 ± 4 ^E	0,45 ± 0,04 ^G	268 ± 14 ^D	61 ± 8 ^D	0,69 ± 0,02 ^E	164 ± 3 ^D	54 ± 2 ^E	0,31 ± 0,03 ^F
ET (%)									
50	338 ± 11 ^C	174 ± 4 ^D	0,94 ± 0,01 ^E	369 ± 23 ^B	88 ± 3 ^B	1,04 ± 0,04 ^D	244 ± 13 ^C	84 ± 7 ^D	0,49 ± 0,02 ^E
70	333 ± 8 ^C	179 ± 23 ^D	0,81 ± 0,01 ^F	327 ± 10 ^C	80 ± 4 ^C	0,97 ± 0,02 ^D	240 ± 23 ^C	81 ± 7 ^D	0,43 ± 0,01 ^E
ME (%)									
50	418 ± 31 ^B	229 ± 23 ^C	1,24 ± 0,06 ^D	317 ± 23 ^C	85 ± 4 ^B	1 ± 0,01 ^D	254 ± 12 ^C	80 ± 6 ^D	0,49 ± 0,01 ^E
70	288 ± 3 ^C	187 ± 15 ^D	1,31 ± 0,03 ^D	324 ± 6 ^C	66 ± 1 ^D	0,99 ± 0,01 ^D	226 ± 17 ^C	73 ± 6 ^D	0,44 ± 0,01 ^E
AC (%)									
50	467 ± 53 ^B	237 ± 10 ^C	1,24 ± 0,01 ^D	419 ± 17 ^A	87 ± 2 ^B	1,37 ± 0,02 ^C	305 ± 29 ^B	104 ± 5 ^C	0,57 ± 0,02 ^D
70	463 ± 16 ^B	264 ± 21 ^B	1,55 ± 0,08 ^C	416 ± 19 ^A	101 ± 2 ^A	1,56 ± 0,01 ^B	334 ± 13 ^A	116 ± 6 ^B	0,67 ± 0,02 ^C
MEAC	579 ± 31 ^A	312 ± 12 ^A	1,96 ± 0,05 ^A	439 ± 19 ^A	102 ± 5 ^A	2,08 ± 0,01 ^A	357 ± 37 ^A	144 ± 7 ^A	1,26 ± 0,08 ^A
ETAC	538 ± 29 ^A	299 ± 22 ^A	1,86 ± 0,02 ^B	338 ± 6 ^C	74 ± 4 ^C	1,55 ± 0,07 ^B	286 ± 13 ^B	83 ± 2 ^D	0,96 ± 0,04 ^B

Los valores representan la media (n = 3) ± SD. Medias con una letra común por columna no son significativamente diferentes (p <= 0,05)

Resulta difícil hacer una comparación directa entre la concentración de fitoquímicos hallada en nuestra investigación con la informada por otros autores, ya que además de que las condiciones de cultivo afectan significativamente la síntesis de diversos compuestos, la cosecha de frutos rojos es a menudo subjetiva pues se suele tener en cuenta solo el color como atributo principal. Sumado a esto, las condiciones de extracción generalmente son diferentes (solventes, tiempo de extracción, temperatura, etc.) Aun así se puede observar que varios trabajos reportan el alto contenido en polifenoles de las guindas (228 a 407 mg GAE/ 100g FF) y su gran capacidad antioxidante frente a otras frutas [Chaovanalikit y Wrolstad, 2004; Kim y Padilla-Zakour, 2004; Kirakosyan *et al.*, 2009; Piljac-Žegarac y Šamec, 2011; Vinson, 1998]. Las guindas son muy ricas en antocianinas, en derivados del ácido hidroxycinámico y en flavan-3ol, especialmente catequina y epicatequina [Heinonen *et al.*, 1998]. Wang *et al.* [1999] hallaron compuestos en Guindas “Montmorency” que tienen capacidad antioxidante comparable a TBHQ y BHT. Los berries, grupo dentro del cual se hallan el arándano y la zarzamora, constituyen un grupo destacado por su contenido en compuestos bioactivos y capacidad antioxidante, intensificado cuando estos presentan fuerte color púrpura [Kähkönen *et al.*, 1999]. En zarzamora se han informado valores para FT de 322 a 644 mg GAE/ 100g FF [Ali *et al.*, 2011; Guerrero C. *et al.*, 2010; Jimenez-Garcia *et al.*; Szajdek y Borowska, 2008] y para Fv de 276 mg CE/100g FF [Jimenez-Garcia *et al.*]. Por otra parte, el arándano ha mostrado ser un muy buen antioxidante debido en parte a su alto contenido en antocianinas, hidroxycinamatos y proantocianidinas

[Heinonen y Meyer, 2002]. Se han informado valores de FT desde 181 a 551 mg GAE/100g FF [Guerrero C. *et al.*, 2010; Szajdek y Borowska, 2008; Vinson, 1998], y para Fv 50 mg CE/100g FF [Jimenez-Garcia *et al.*, 2012].

Las Figura 1, Figura 2 y Figura 3 muestran los contenidos de FT y Fv para guinda, zarzamora y arándano respectivamente, según el solvente de extracción.

En la Figura 1 se observa que MEAC y ETAC son los mejores solventes para FT y Fv en guinda, en cambio para la zarzamora se observa que AC 50, AC 70 y MEAC son los mejores solventes para FT mientras que AC 70 y MEAC lo son para Fv (Figura 2). En cuanto a arándano, la Figura 3 muestra que AC 70 y MEAC son los mejores solventes tanto para FT como para Fv. En todos los casos AD es el peor solvente de extracción. (Observar en Tabla 1 que letras iguales por columnas no presentan diferencias significativas, $p < 0,05$)

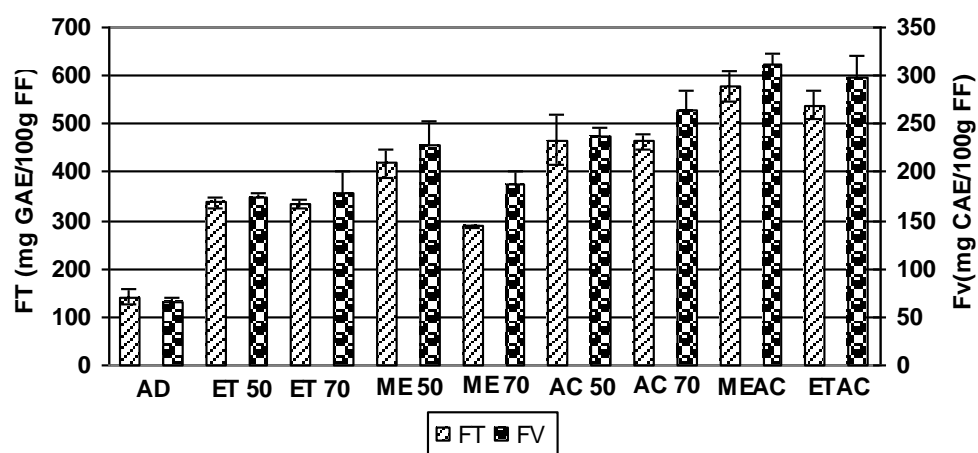


Figura 1. Contenido de FT y Fv para Guinda

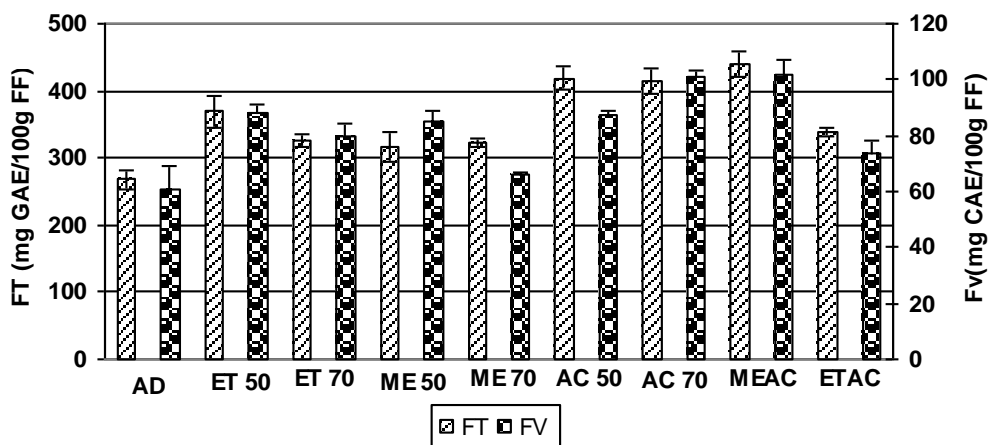


Figura 2. Contenido de FT y Fv para Zarzamora

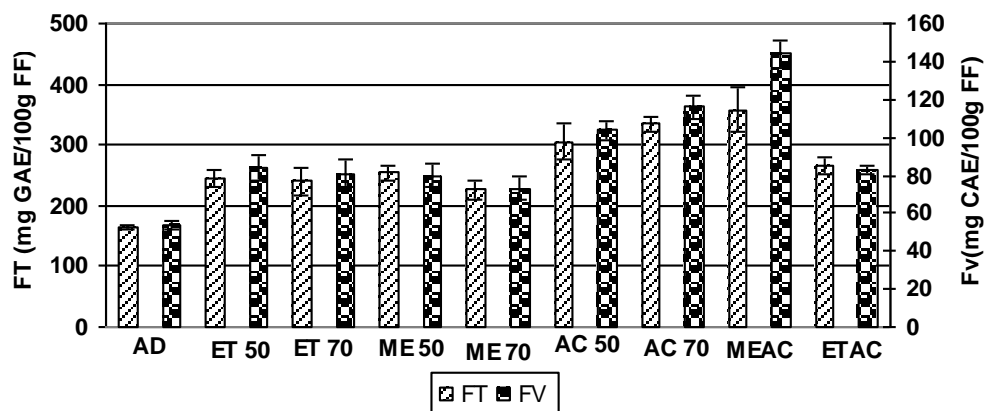


Figura 3. Contenido de FT y Fv para Arándano

La Figura 4 muestra la CA para todas las frutas y solventes. Es evidente que en las tres frutas el mejor solvente es MEAC seguido de ETAC y de AC 70 y que el peor es AD

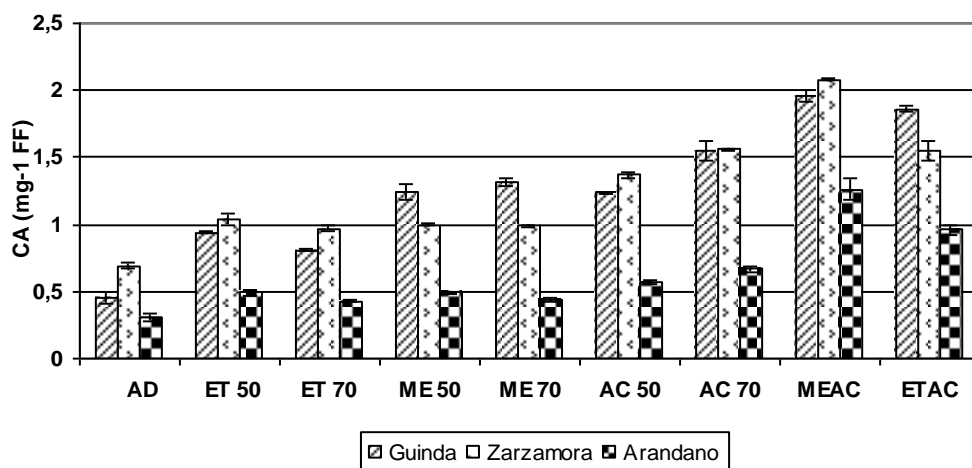


Figura 4. CA en todas las frutas analizadas y en los diferentes solventes

Escoger el solvente adecuado es uno de los factores más importantes en la obtención de extractos con alto contenido de compuestos bioactivos. En general las formas agliconas altamente hidroxiladas de los compuestos fenólicos son solubles en solventes tales como etanol, metanol y agua. Los solventes como el acetato de etilo, acetona y cloroformo se utilizan para las menos polares y altamente metoxiladas (muy comunes en la piel de las frutas) [González-Montelongo *et al.*, 2010].

Las condiciones de extracción y la selección de los disolventes dependerán del tipo de muestra y de la naturaleza de los compuestos que se desean extraer. Así, Shahidi *et al.*

[1991] y Naczki *et al.* [1992] encontraron que la extracción en dos pasos secuenciales con acetona al 70% era suficiente para la extracción de taninos. Deshpande y Cheryan [1985] publicaron que el tiempo óptimo de extracción de polifenoles era de 50 a 60 minutos. Otro aspecto a tener en cuenta es la relación peso de muestra a volumen de solvente. Comúnmente se utiliza 1:1 y 1:10, sin embargo mayores relaciones como 1:20 a 1:100 han dado mejores resultados [Dorta *et al.*, 2013]. Respecto a la temperatura se ha observado que la extracción a temperaturas elevadas afecta la estabilidad de los compuestos fenólicos, debido a la degradación enzimática y química y a las pérdidas causadas por la volatilización y la descomposición térmica [González-Montelongo *et al.*, 2010].

En este trabajo se decidió utilizar una temperatura de 37°C, una extracción en dos pasos, un tiempo total de extracción por agitación de 60 minutos y una relación peso del material a volumen de solvente igual a 1:25.

Es evidente que para las frutas estudiadas el mejor solvente de extracción de los compuestos bioactivos fue el metanol acidificado comparable en zarzamora y arándano con Acetona 70% y seguido de etanol acidificado en guinda. Esto podría deberse a que en estos frutos rojos intensamente coloreados las antocianinas constituyen un importante grupo dentro de los compuestos bioactivos [Heinonen y Meyer, 2002] que es sabido se extraen mejor con solventes acidificados. Según Moore *et al.* [1982] para una mayor extracción y estabilidad de compuestos como las antocianinas y proantocianidinas se utiliza normalmente metanol acidificado ya que destruye las membranas celulares permitiendo una mejor extracción de este tipo de compuestos. Dorta *et al.* [2013] han observado que los solventes de alta polaridad son más efectivos en la recuperación de compuestos antioxidantes que los solventes no polares y que condiciones ácidas, como pH 3 favorecen la recuperación de fenoles. También Oreopoulou [2003] informa que la extracción alcohólica de productos de uva es más efectiva en condiciones ácidas con pH alrededor de 3-3,5 ya que la hidrólisis de los enlaces glucosídicos no sería indeseable sino que permitiría aumentar la actividad antioxidante de algunos compuestos. Vatai *et al.* [2009] informa que la utilización de etanol acidificado permitió la extracción de 30 a 40% mas de fenoles totales de sauco. Por otra parte, también se demostró que acetona-agua (70:30) es el mejor solvente para extraer proantocianidinas de arándanos (Prior, 2001). Las mezclas acetona agua con alto % de acetona han sido muy efectivas para extraer fenoles de las matrices proteicas ya que degradan los complejos polifenol-proteínas [Dorta *et al.*, 2013].

Sulaiman *et al.* [2011] estudiaron el efecto de los solventes en la extracción de polifenoles y antioxidantes de 37 especies de vegetales crudos y si bien no utilizaron solventes acidificados, hallaron que acetona-agua 70:30 fue el mejor solvente para extraer polifenoles de 24 especies, para extraer flavonoides de 22 especies y que 27 especies mostraron los mayores valores de CA en dicho extracto, al mismo tiempo informaron que el agua destilada fue el solvente mas ineficiente para extraer compuestos fenólicos. Se podría inferir que esto se debe a la oxidación de los fenoles totales por la polifenol oxidasa, activa en el medio acuoso, mientras que en los extractos de metanol, etanol y acetona la enzima se encuentra inactiva, además la temperatura de 37°C durante la extracción favorece la

actividad enzimática, por ello los extractos acuosos presentaron un amarronamiento que no se observó en los otros.

4 CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos se puede concluir que el mejor sistema de extracción para los compuestos bioactivos analizados en guinda, zarzamora y arándano resultó ser el metanol acidificado y en contrapartida el más ineficiente el agua destilada. La variación desigual del resto de los solventes dentro de cada matriz refleja el importante papel que ésta juega al momento de realizar la extracción, por lo cual siempre será necesario realizar una evaluación previa del efecto de los solventes y las condiciones de extracción antes de abordar el estudio de una nueva fruta si no se cuenta con bibliografía específica.

5 AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional del Comahue, Facultad de Ciencias y Tecnología de los Alimentos, a la ANPCyT y al CONICET por la financiación de este trabajo. El autor De Michelis es miembro del CONICET.

6 BIBLIOGRAFIA

- ALI, L., SVENSSON, B., ALSANIUS, B.W. Y OLSSON, M.E. Late season harvest and storage of Rubus berries—Major antioxidant and sugar levels. *Scientia Horticulturae*, 2011, vol. 129, no. 3, p. 376-381.
- ALOTHMAN, M., BHAT, R. Y KARIM, A.A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 2009, vol. 115, no. 3, p. 785-788.
- ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P., ROBARDS, K. Y RYAN, D. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. *The Analyst*, 2000, vol. 125, no. 5, p. 989-1009.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E. Y BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 1995, vol. 28, no. 1, p. 25-30.
- CHAOVANALIKIT, A. Y WROLSTAD, R.E. Total Anthocyanins and total Phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *Journal of Food Science*, 2004, vol. 69, no. 1, p. FCT67-FCT72.
- DESHPANDE, S.S. Y CHERYAN, M. Evaluation of Vanillin assay for Tannin analysis of dry beans. *Journal of Food Science*, 1985, vol. 50, no. 4, p. 905-910.
- DI RIENZO, J., CASANOVES, F., BALZARINI, M., GONZÁLEZ, L., TABLADA, M. Y ROBLEDO, C. *Software InfoStat versión 2011*. Argentina: Grupo InfoStat, FCA, U.N.C., Arg., 2011.

- DORTA, E., LOBO, M.G. Y GONZÁLEZ, M. Optimization of factors affecting extraction of antioxidants from Mango seed. *Food and Bioprocess Technology*, 2013/04/01 2013, vol. 6, no. 4, p. 1067-1081.
- GONZÁLEZ-MONTELONGO, R., GLORIA LOBO, M. Y GONZÁLEZ, M. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry*, 2010, vol. 119, no. 3, p. 1030-1039.
- GUERRERO C., J., CIAMPI P., L., CASTILLA C., A., MEDEL S., F., SCHALCHLI S., H., HORMAZABALU., E., BENSCH T., E. Y ALBERDI L., M. Antioxidant capacity, anthocyanins, and total phenols of wild and cultivated berries in Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 2010, vol. 70, no. 1, p. 537-544.
- HEINONEN, I.M. Y MEYER, A.B.S. Antioxidants in fruits, berries and vegetables. *En: JONGEN. Fruit and Vegetable Processing*. Woodhead Publishing/CRC Press, 2002, p. 23-51.
- HEINONEN, I.M., MEYER, A.B.S. Y FRANKEL, E.N. Antioxidant activity of berry Phenolics on human low-density Lipoprotein and Liposome Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, vol. 46, no. 10, p. 4107-4112.
- HODZIC, Z., PASALIC, H., MEMISEVIC, A., SRABOVIC, M. Y POLJAKOVIC, M. The influence of total phenols content on antioxidant capacity in the whole grain extracts. *European Journal of Science Research*, 2009, vol. 28, no. 3, p. 471-477.
- JIMENEZ-GARCIA, S.N., GUEVARA-GONZALEZ, R.G., MIRANDA-LOPEZ, R., FERREGRINO-PEREZ, A.A., TORRES-PACHECO, I. Y VAZQUEZ-CRUZ, M.A. Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. *Food Research International*, 2012, vol. *Article in press*.
- KÄHKÖNEN, M.P., HOPIA, A.I., VUORELA, H.J., RAUHA, J.-P., PIHLAJA, K., KUJALA, T.S. Y HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, vol. 47, no. 10, p. 3954-3962.
- KIM, D.O. Y PADILLA-ZAKOUR, O.I. Jam processing effect on phenolics and antioxidant capacity in Anthocyanin-rich Fruits: Cherry, Plum, and Raspberry. *Journal of Food Science*, 2004, vol. 69, no. 9, p. S395-S400.
- KIRAKOSYAN, A., SEYMOUR, E.M., LLANES, D.E.U., KAUFMAN, P.B. Y BOLLING, S.F. Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. *Food Chemistry*, 2009, vol. 115, no. 1, p. 20-25.
- LUTHRIA, D.L., MUKHOPADHYAY, S. Y KWANSA, A.L. A systematic approach for extraction of phenolic compounds using parsley (*Petroselinum crispum*) flakes as model substrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2006, vol. 86, no. 9, p. 1350-1358.
- MOHAMED, S., SULAIMAN, S.F., MOHAMAD, S., ZAKARIA, Z. Y WAHAB, H.A. *Khasiat ulam-ulaman, siri terapi alam semulajadi*. Penang, Malaysia: University Science Malaysia, 2005.
- MOORE, A., FRANCIS, F. Y CLYDESDALE, F. Changes in chromatographic profile of anthocyanins of red onion during extraction. *Journal Food Protection*, 1982, vol. 45, no. 1, p. 738.

- NACZK, M. Y SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006, vol. 41, no. 5, p. 1523-1542.
- NACZK, M., SHAHIDI, F. Y SULLIVAN, A. Recovery of rapeseed tannins by various solvent systems. *Food Chemistry*, 1992, vol. 45, no. 1, p. 51-54.
- OREOPOULOU, V. Extraction of Natural Antioxidants. *En: LIADAKIS Y TZIA. Extraction Optimization in Food Engineering*. Marcel Dekker, Inc./CRC Press, 2003, vol. 128.
- PILJAC-ŽEGARAC, J. Y ŠAMEC, D. Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. *Food Research International*, 2011, vol. 44, no. 1, p. 345-350.
- SHAHIDI, F., NACZK, M., PEGG, R.B. Y SYNOWIECKI, J. Chemical composition and nutritional value of processing discards of cod (*Gadus morhua*). *Food Chemistry*, 1991, vol. 42, no. 2, p. 145-151.
- SULAIMAN, S.F., SAJAK, A.A.B., OOI, K.L., SUPRIATNO Y SEOW, E.M. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, vol. 24, no. 4-5, p. 506-515.
- SUN, T., POWERS, J.R. Y TANG, J. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. *Food Chemistry*, 2007, vol. 105, no. 1, p. 101-106.
- SWAIN, T. Y HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1959, vol. 10, no. 1, p. 63-68.
- SZAJDEK, A. Y BOROWSKA, E.J. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: A review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2008/12/01 2008, vol. 63, no. 4, p. 147-156.
- VATAI, T., ŠKERGET, M. Y KNEZ, Ž. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*, 2009, vol. 90, no. 2, p. 246-254.
- VINSON, J.A. Flavonoids in foods as in vitro and in vivo antioxidants. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1998, vol. 439, p. 151-164.
- WANG, H., NAIR, M.G., STRASBURG, G.M., BOOREN, A.M. Y GRAY, J.I. Antioxidant polyphenols from tart cherries (*Prunus cerasus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Mar 1999, vol. 47, no. 3, p. 840-844.
- ZHISHEN, J., MENGCHENG, T. Y JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 1999, vol. 64, no. 4, p. 555-559.

Hoja en Blanco